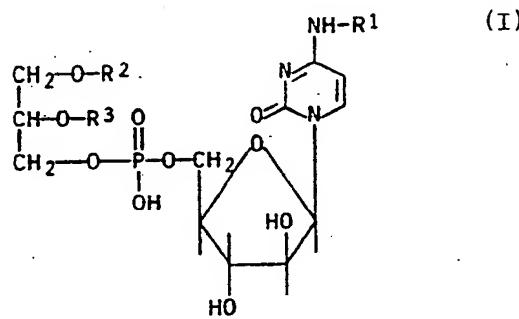


PCTWELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

| | | | |
|--|--|----|--|
| (51) Internationale Patentklassifikation 5 : C07H 19/207, 19/19, A61K 31/70 | | A1 | (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/18520 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Oktober 1992 (29.10.92) |
| (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP92/00712 | | | (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CA, CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), MC (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US. |
| (22) Internationales Anmeldedatum: 31. März 1992 (31.03.92) | | | |
| (30) Prioritätsdaten: P 41 11 730.1 10. April 1991 (10.04.91) DE | | | |
| (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): KNOLL AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Knollstrasse, D-6700 Ludwigshafen (DE). | | | Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> |
| (72) Erfinder; und | | | |
| (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : KLUGE, Michael [DE/DE]; Am Huebaum 14, D-6701 Kallstadt (DE). SCHOTT, Herbert [DE/DE]; Hartmeyerstrasse 14, D-7400 Tuebingen (DE). | | | |
| (74) Anwalt: SCHWEISS, Werner; BASF Aktiengesellschaft, Carl-Bosch-Strasse 38, D-6700 Ludwigshafen (DE). | | | |

(54) Title: NOVEL CYTARABINE DERIVATIVES, THEIR PRODUCTION AND USE

(54) Bezeichnung: NEUE CYTARABIN-DERIVATE, IHRE HERSTELLUNG UND VERWENDUNG



(57) Abstract

The description relates to novel cytarabine derivatives of formula (I) in which R¹, R² and R³ have the meanings given in the description and their production. The compounds are suitable for the treatment of diseases.

(57) Zusammenfassung

Es werden neue Cytarabin-Derivate der Formel (I), worin R¹, R² und R³ die in der Beschreibung angegebene Bedeutung besitzen, sowie deren Herstellung beschrieben. Die Verbindungen eignen sich zur Bekämpfung von Krankheiten.

BEST AVAILABLE COPY

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | |
|-----|--------------------------------|----|-----------------------------------|----|--------------------------------|
| AT | Österreich | FI | Finland | MN | Mongolei |
| AU | Australien | FR | Frankreich | MR | Mauritanien |
| BB | Barbados | GA | Gabon | MW | Malawi |
| BE | Belgien | GB | Vereinigtes Königreich | NL | Niederlande |
| BF | Burkina Faso | GN | Guinea | NO | Norwegen |
| BG | Bulgarien | GR | Griechenland | PL | Polen |
| BJ | Benin | HU | Ungarn | RO | Rumänien |
| BR | Brasilien | IE | Irland | RU | Russische Föderation |
| CA | Kanada | IT | Italien | SD | Sudan |
| CF | Zentrale Afrikanische Republik | JP | Japan | SE | Schweden |
| CG | Kongo | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | SN | Senegal |
| CH | Schweiz | KR | Republik Korea | SU | Soviet Union |
| CI | Côte d'Ivoire | LI | Liechtenstein | TD | Tschad |
| CM | Kamerun | LK | Sri Lanka | TG | Togo |
| CS | Tschechoslowakei | LU | Luxemburg | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| DE* | Deutschland | MC | Monaco | | |
| DK | Dänemark | MG | Madagaskar | | |
| ES | Spanien | ML | Mali | | |

Neue Cytarabin-Derivate, ihre Herstellung und Verwendung

Beschreibung

5 Die vorliegende Erfindung betrifft neue Cytarabin-Derivate, deren Herstellung sowie deren Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.

10 AraC (= Cytarabin = 4-Amino-1- β -D-arabinofuranosyl-2(1H)-pyrimidinon bzw. 1- β -D-Arabinofuranosylcytosin, Merck-Index 11. Auflage, Nr. 2790) ist ein in der Chemotherapie von Krebskrankungen bewährtes Zytostatikum. Durch die im Körper anwesende Cytosindesaminase wird das AraC jedoch schnell desaminiert und damit unwirksam. Zur Erzielung einer therapeutischen Wirkung muß 15 es daher in hohen Dosen appliziert werden, die für den Patienten mit unangenehmen Nebenwirkungen verbunden sind. Hinzukommt, daß Tumorzellen, denen eine Kinase-Aktivität fehlt, AraC nicht zum wirksamen 5'-Triphosphat phosphorylieren und somit gegen AraC resistent sind.

20 Um die zu schnelle enzymatische Desaminierung zeitlich zu verzögern, wurde die Aminogruppe des Cytosinrestes bisher mit Acyl-Schutzgruppen maskiert (Int. J. Cancer 37, 149 (1986)). Die hierbei erhaltenen N⁴-AcylAraC-Derivate zeigten aber, auch wenn 25 sie in Form von Liposomen appliziert wurden, im Vergleich zu underivatisiertem AraC keine verbesserte zytostatische Wirkung. Die N⁴-Acylamidbindung dieser AraC-Prodrugs konnte die enzymatische Desaminierung *in vivo* nur kurzfristig verzögern. Abgesehen davon ist N⁴-Acyl-AraC bei AraC-Resistenz unwirksam.

30 Der AraC-Resistenz von Tumorzellen versuchte man dadurch entgegenzuwirken, daß AraC oder AraC-5'-Monophosphat kovalent an natürliche Phospholipide gekuppelt wurde (DE 83 00 2391). Von diesen AraC-Prodrugs erhoffte man sich, daß sie von 35 AraC-resistenten Tumorzellen aufgenommen und im Zellinnern in das aktive AraC-5'-Monophosphat enzymatisch gespalten würden. Prodrugs, in denen AraC oder AraC-5'-Monophosphat an natürliche Esterphospholipide gekuppelt vorliegen und die in Form von Liposomen appliziert wurden, erfüllten nur teilweise die Erwartungen.

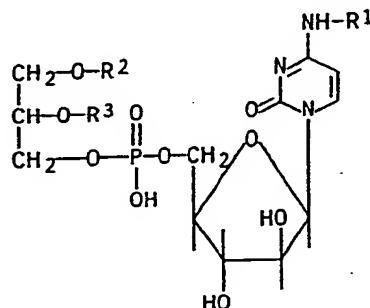
Nachteilig bei diesen Prodrugs ist, daß die zum Aufbau der Prodrugs verwendeten natürlichen Lipidbausteine zu schnell enzymatisch gespalten werden, so daß diese Phospholipid-AraC-Prodrugs zu schnell zu inaktiven Derivaten metabolisiert werden.

5

Es wurden nun neue Cytarabin-Derivate gefunden, die effektiver gegen eine enzymatische Desaminierung geschützt sind und die sich zur Therapie von AraC-resistenten Tumorzellen eignen.

10

Gegenstand der Erfindung sind Cytarabin-Derivate der Formel I



worin

R¹ ein Wasserstoffatom, einen C₁₄-C₂₄-Alkylrest, der gegebenen-

15 falls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein kann, einen aliphatischen C₂-C₂₄-Acylrest, der gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein kann, oder den Acylrest der Benzoesäure oder Anissäure und

20 R², R³, die gleich oder verschieden sein können, Wasserstoffatome, C₁-C₂₄-Alkylreste, die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können, aliphatische C₂-C₂₄-Acylreste die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können,

25 bedeuten, wobei jedoch höchstens 2 der Reste R¹ bis R³ Wasserstoffatome sein können und R¹ ≠ H ist, wenn R² und R³ Acylreste bedeuten.

Als Alkylreste kommen für R¹ insbesondere Hexadecyl und Octadecyl in Betracht.

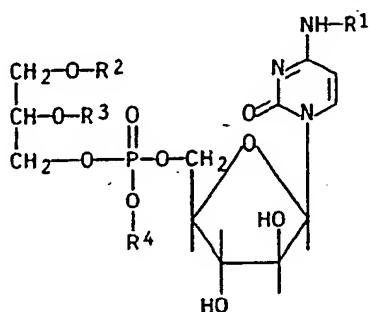
Ist R¹ ein Acylrest, so sind folgende Reste bevorzugt:

5 Palmitoyl, Oleoyl, Behenoyl.

Für R² und R³ sind unverzweigte Alkyl- und Acylreste mit 1 bis 20 C-Atomen bevorzugt.

10 Die neuen Cytarabin-Derivate der Formel I lassen sich herstellen, indem man

a) aus Verbindungen der Formel II

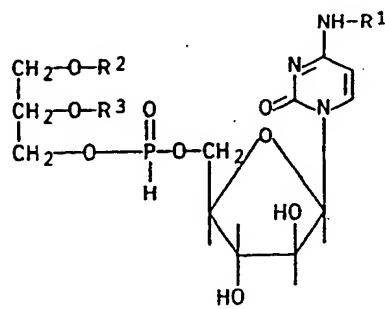


II,

15 worin R¹, R² und R³ die angegebene Bedeutung haben und R⁴ einen 2- oder 4-Chlorphenylrest darstellt, den chlorierten Phenylrest R⁴ abspaltet oder

b) eine Verbindung der Formel III

20



III,

worin R¹, R² und R³ die angegebene Bedeutung haben, oxidiert.

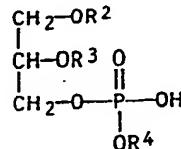
Die Abspaltung des chlorierten Phenylrestes gemäß a) gelingt besonders gut, wenn man die Verbindungen II 5 bis 15 h in einem wässrig-organischen Lösungsmittel bei Raumtemperatur mit Tetrabutylammoniumfluorid stehen lässt.

5

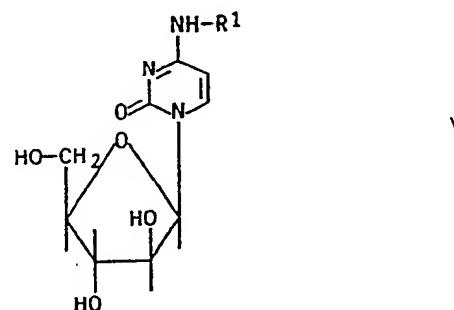
Die Oxidation der Verbindungen III gelingt besonders gut bei Raumtemperatur mit Jod in organisch wässrigen Lösungsmitteln.

Die so erhaltenen Reaktionsprodukte können durch Chromatographie
10 gereinigt werden.

Die als Ausgangsmaterial verwendeten Verbindungen der Formel II lassen sich durch Kondensation von Verbindungen der Formel IV



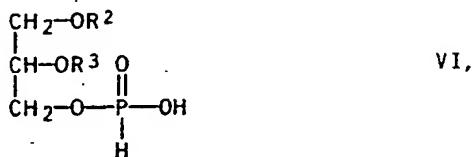
15 worin R₂, R₃ und R₄ die angegebene Bedeutung haben, mit Verbindungen der Formel V (R₁≠H)



mit Hilfe von Kondensationsmitteln in an sich bekannter Weise herstellen.

20

Die Verbindungen der Formel III erhält man durch Umsetzen einer Verbindung der Formel VI



5 worin R² und R³ die angegebene Bedeutung haben, mit einer Verbindung der Formel V (R¹ ≠ H) in Gegenwart eines Säurechlorids und anschließende Oxidation in bekannter Weise. Falls ein oder zwei der Reste R¹, R² und R³ Wasserstoff sein sollen, müssen in einer entsprechenden Acyl-Verbindung Acylreste gegen Wasserstoff ausgetauscht werden.

10

Die Verbindungen IV, V und VI sind bekannt oder lassen sich nach bekannten Verfahren herstellen (Chem. Pharm. Bull. 26, 981 (1978), Nucleic Acid Res. Symposium Series No. 18, 189 (1987)).

15

Weiter können durch die Anzahl, Länge, Art und Lage der jeweiligen Substituenten in den erfindungsgemäßen AraC-Derivaten die amphiphilen Eigenschaften überraschenderweise in weiten Grenzen variiert werden. Die amphiphilen AraC-Derivate sind somit in wässrigen Puffersystemen löslich und/oder in Form von Liposomen

20

dispergierbar. Je nach der amphiphilen Eigenschaft des AraC-Derivats ist die Liposomenbildung ohne und/oder mit weiteren Lipidkomponenten erreichbar. Zur Liposomenbildung können alle an sich bekannten Verfahren der Liposomendarstellung verwendet werden wie beispielsweise Ultraschall, Gelchromatographie,

25

Detergenzdialyse. Die jeweils eingeführten lipophilen Reste beeinflussen außerdem maßgeblich die Größe und Stabilität der Liposomen, die sich aus den jeweiligen amphiphilen AraC-Derivaten bilden.

30

Durch die gezielte Einführung von lipophilen Resten lässt sich aber nicht nur der amphiphile Charakter der erfindungsgemäßen AraC-Derivate gezielt steuern, sondern überraschenderweise auch die zytostatische Wirkung von AraC entscheidend optimieren.

35

40

Die neuen Verbindungen lassen sich wie das AraC selbst gegen maligne Erkrankungen der blutbildenden Zellen einsetzen, insbesondere gegen akute Leukämien und chronisch myeloische Leukämie im Blastenschub.

5 Die zytostatische Wirkung der amphiphilen AraC-Derivate lässt sich in sogenannten Immunoliposomen überraschenderweise zur gezielten Zerstörung von bestimmten Tumorzellen nutzen. Hierzu werden die amphiphilen AraC-Derivate zusammen mit weiteren Lipidkomponenten 10 in Form von Liposomen in physiologischen Puffersystemen dispergiert. An funktionellen Gruppen der Liposomenmembran werden monoklonale Antikörper immobilisiert. Die so erhaltenen Immuno- 15 liposomen werden *in vitro* bevorzugt von den Tumorzellen aufgenommen, die das dem Antikörper entsprechende Antigen exprimieren. Die Folge dieses Zell-targetings ist die selektive Zerstörung der jeweiligen Zieltumorzelle in einem Gemisch verschiedener Zellen.

Die Wirkung der neuen Verbindungen lässt sich in folgender Versuchsanordnung zeigen:

20 DBA/2-Mäusen wurden L1210 Tumorzellen intravenös injiziert, wodurch eine Leukämie simuliert wurde. Am Tag 3 und 7 nach der Tumorzell-Injektion wurde den tumortragenden Tieren verschiedene Dosierungen der Testsubstanz oder Lösungsmittel verabreicht. 25 Insgesamt ergab sich folgende Einteilung in die einzelnen Versuchsgruppen:

- Kontrollgruppe (Lösungsmittel)
- i.v. Applikation (2 Dosierungen)
- 30 - i.p. Applikation (2 Dosierungen)
- i.v. AraC als Referenz (2 Dosierungen)
- i.p. AraC als Referenz (2 Dosierungen)

35 Als Parameter für den Therapieerfolg wird die mediane Überlebenszeit der einzelnen Versuchsgruppen (10 Tiere pro Gruppe) berechnet.

In diesen Versuchen zeigten die neuen Verbindungen eine bessere Wirkung als AraC.

Die neuen Verbindungen sollen in einer Dosierung von etwa 40 - 1000 mg pro Patient und Tag eingesetzt werden.

Beispiel 1

5

Darstellung von D,L-4-(1-Hexadecylamino)1- β -D-5'-O-(1,2-di-O-palmitoyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

a. Herstellung des Ausgangsmaterials

10

5 g (10,7 mmol) 4-(1-Hexadecylamino)-1- β -D-arabinofuranosyl-cytosin wurden zusammen mit 6,8 g (10,7 mmol) D,L-1,2-Di-O-palmitoyl-glycero-3-hydrogenphosphonat in 50 ml wasserfreiem Pyridin mit 6,6 ml (53,5 mmol) Pivalinsäurechlorid versetzt und unter

15 Feuchtigkeitsausschluß 10 min bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend wurde die Lösung im Vacuum zum Sirup konzentriert, der dann zweimal mit ca. 40 ml Toluol abrotiert wurde.

b. Herstellung des Endprodukts

20

Der gemäß a) erhaltene Rückstand wurde mit 200 ml einer 0,2 M Jodlösung (Tetrahydrofuran/Pyridin/Wasser, 90/5/5, V/V/V) versetzt und 40 min bei Raumtemperatur belassen. Nach der Oxidation wurde der Reaktionsansatz mit einem Gemisch aus 500 ml 25 Chloroform und 500 ml 2%iger wässriger NaHSO₃-Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und im Vacuum zum Sirup konzentriert.

Der Sirup wurde mit ca. 80 ml Chloroform aufgenommen und an einer 30 Kieselgelsäule in Chloroform/Methanol-Gradienten fraktioniert.

Die Fraktionen des gewünschten Produkts, die mit Chloroform/Methanol (9/1, V/V) die Säule verließen, wurden vereinigt, zur Trockene konzentriert und anschließend aus Methanol kristallisiert. Hierbei wurden 3,7 g eines weißen Pulvers erhalten, das auf der Kieselgelplatte in System Chloroform/Methanol (7/3, V/V) einen R_f-Wert von 0,46 aufwies.

Beispiel 2

Darstellung von D-4-(1-Hexadecylamino)-1- β -D-5'-O-(1,2-di-O-palmitoyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

5

Das Beispiel 1 wurde wiederholt, jedoch mit D-1,2-Di-O-palmitoyl-glycero-3-hydrogenphosphonat als Ausgangsmaterial. Man erhielt 4,4 g Produkt.

10 Beispiel 3

Darstellung von D,L-4-(Palmitoyl)-1- β -D-5'-O-(1,2-di-O-palmitoyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

15

a) Herstellung des Ausgangsmaterials

8 g (16 mmol) 4-(Palmitoyl)-1- β -D-arabinofuranosylcytosin wurden zusammen mit 16 g (21 mmol) 1,2 D,L-Di-O-palmitoyl-glycero-3-(2-chlorphenyl)phosphat in 50 ml wasserfreiem Pyridin mit 11 g (36 mmol) 2,4,6-Triisopropylbenzolsulfonsäurechlorid und 9 ml N-Methylimidazol versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluß 1 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wurde der Ansatz im Vacuum zum Sirup konzentriert, der dann zweimal mit ca. 150 ml Toluol abrotiert wurde.

Der Rückstand wurde in 200 ml Chloroform aufgenommen und an einer Kieselgelsäule im Chloroform/Methanol-Gradienten fraktioniert. Die Fraktionen des gewünschten Produkts, die mit Chloroform/Methanol (95/5, v/v) die Säule verließen, wurden vereinigt, zur Trockne konzentriert und aus Methanol kristallisiert. Sie ergaben 9,5 g eines weißen Pulvers.

b. Herstellung des Endprodukts

35

Zur Abspaltung des 2-Chlorphenylrestes wurde das isolierte Kondensationsprodukt mit einem Überschuß von 3 Äquivalenten Tetrabutylammoniumfluorid \times 3H₂O bei Raumtemperatur ca. 6 h behandelt. Hierzu verwendete man eine 0,05 M Tetrabutylammoniumfluoridlösung in Tetrahydrofuran/Pyridin/Wasser (8/1/1, v/v/v).

40

Zur Reinigung wurde der Reaktionsansatz an einer Kieselgelsäule im Chloroform/Methanol-Gradienten fraktioniert. Die Fraktionen des gewünschten Produkts wurden konzentriert und aus Diethylether kristallisiert. Man erhielt 5 g eines weißen Pulvers, das auf der 5 Kieselgelplatte im System Chloroform/Methanol (4/1, V/V) einen R_f-Wert von 0,20 aufwies.

Beispiel 4

10 Darstellung von D-4-(Palmitoyl)-1-β-D-5'-O-(1,2-di-O-palmitoyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin

Das Beispiel 3 wurde wiederholt, jedoch mit D-1,2-Di-O-palmitoyl-glycero-3-(2-chlorphenyl)-phosphat als Ausgangsmaterial. Die 15 Ausbeute betrug 5,9 g.

Beispiel 5

20 Darstellung von D,L-1-β-D-5'-O-(1-Oktadecyl-glycero-3-phospho)-arabinofuranosylcytosin

a) Herstellung des Ausgangsmaterials

Durch Kondensation von D,L-1-O-Octadecyl-2-O-acetyl-glycero-3-Hydrogenphosphonat (in Analogie zu Beispiel 1) oder von 25 D,L-1-O-Octadecyl-2-O-acetyl-glycero-3(2-chlorphenyl)phosphat (in Analogie zu Beispiel 3) mit 4-(Benzoyl)-1-β-D-arabinofuranosylcytosin wurde zunächst D,L-4-(Benzoyl)-1-β-D-5'-O-(1-O-octadecyl-2-O-acetyl-glycero-3-phospho)arabinofuranosylcytosin 30 synthetisiert und anschließend an Kieselgel chromatographiert.

b) Herstellung des Endprodukts

Das gemäß a) erhaltene Kondensationsprodukt wurde mit einem 35 Überschuß methanolischen Ammoniak ca. 24 h bei Raumtemperatur verschlossen aufbewahrt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vacuum abgezogen und der Rückstand an einer Kieselgelsäule im Chloroform/Methanol-Gradienten fraktioniert. Fraktionen, die das

gewünschte Produkt enthielten, wurden konzentriert. Der Rückstand, der aus Aceton/Wasser kristallisiert wurde, ergab ein weißes Pulver, das im System Chloroform/Methanol (1/1, v/v) einen R_F-Wert von 0,19 aufwies.

5

In analoger Weise erhält man D-1- β -D-5'-O-(1-Oktadecyl-glycero-3-phospho)arabino-furanosylcytosin

Beispiel 6

10

Darstellung der Liposomenpräparate

Für die Herstellung der Liposomendispersion wurden pro ml Chloroform-Methanol (1/1, v/v); jeweils 100 mg Soja-Phosphatidylcholin, 10 mg Cholesterin, 1 mg α -Tocopherol, 7 mg N₂-Palmitoyl-N₆-succinoyl-L-lysin und 12 mg D,L-4-(Palmitoyl)-1- β -D-5'-O-(1,2-di-O-palmitoyl)-glycero-3-phospho)arabino-furanosylcytosin gelöst. 0,6 ml dieser Lipidstammlösung wurden in einem Reagenzglas durch Verblasen mit Luft in einen Lipidfilm überführt, der anschließend ca. 1 h bei 50°C im Vakuum getrocknet wurde. Der Lipidfilm wurde mit 3 ml 10 mM PBS (0,9 % NaCl und 10 mM NaH₂PO₄, pH 7,3) versetzt und mit Hilfe einer Mikrospritze eines Desintegrators 30 min mit 40 Watt beschallt. Hierbei bildete sich eine opaleszente Liposomendispersion, die für die folgende Reaktion verwendet wurde.

Beispiel 7

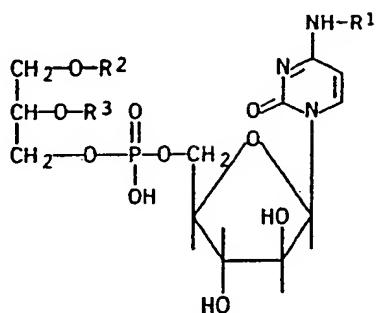
Darstellung der Immunoliposomen

30

1,2 nmol eines Antikörpers wurden als Lyophilisat mit 50 μ l des Liposomenpräparats aus Beispiel 6 und 7 mg (27 μ mol) N(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimid X HCl (EDC) versetzt und durch Zugabe von 30 μ l PBS (pH 1) auf pH 4 eingestellt. Im einstündigen Abstand wurden noch zweimal jeweils 7 mg EDC zugegeben. Nach ca. 5 h Rühren bei Raumtemperatur wurde der Reaktionsansatz auf eine ULTROGEL ACA 22-Säule aufgetragen und mit PBS (pH 7,4) fraktioniert. Fraktionen deren Absorptionsverhältnisse mit den Werten des eingesetzten Liposomenpräparats übereinstimmen, wurden vereinigt und zum Zell-targeting verwendet.

Patentansprüche

1. Cytarabin-Derivate der Formel I



I

5

worin

R¹ ein Wasserstoffatom, einen C₁₄-C₂₄-Alkylrest, der gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein kann, einen aliphatischen C₂-C₂₄-Acylrest, der gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein kann, oder den Acylrest der Benzoësäure oder Anissäure und

10

15

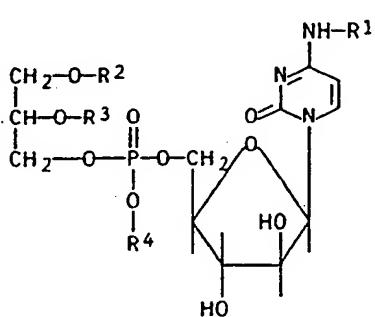
R², R³, die gleich oder verschieden sein können, Wasserstoffatome, C₁-C₂₄-Alkylreste, die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können, aliphatische C₂-C₂₄-Acylreste die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können,

R², R³, die gleich oder verschieden sein können, Wasserstoffatome, C₁-C₂₄-Alkylreste, die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können, aliphatische C₂-C₂₄-Acylreste die gegebenenfalls 1 bis 2 Doppelbindungen enthalten und verzweigt sein können, bedeuten, wobei jedoch höchstens 2 der Reste R¹ bis R³ Wasserstoffatome sein können und R¹ ≠ H ist, wenn R² und R³ Acylreste bedeuten.

2. Verfahren zur Herstellung der Cytarabin-Derivate der Formel I gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man

25

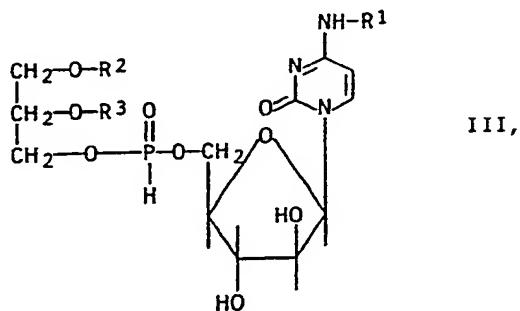
a) aus Verbindungen der Formel II



II,

worin R¹, R² und R³ die angegebene Bedeutung haben und R⁴ einen 2- oder 4-Chlorphenylrest darstellt, den chlorierten Phenylrest R⁴ abspaltet oder

5 b) eine Verbindung der Formel III



worin R¹, R² und R³ die angegebene Bedeutung haben, oxidiert.

10 3. Cytarabin-Derivate der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Verwendung bei der Bekämpfung von Krankheiten.

15

20

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 92/00712

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁵: C 07 H 19/207, C 07 H 19/19, A 61 K 31/70

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.: C 07 H, A 61 K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X | DE, Al, 3 543 346 (BORYUNG PHARMACEUTICAL CO LTD.) 12 June 1986, see abstract; claims. | 1-3 |
| P, A | CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 116, No: 9, published on 2 March 1992, (Columbus, Ohio, USA), CH. LE BEC et al. "Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine and arabinocytidine as anticancer prodrugs", see page 866, ref. No: 84 088j, Tetrahedron Lett. 1991, 32(45), 6553-6 | 1-3 |
| P, A | CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 116, No: 13, published on 30 March 1992 (30.03.92), (Columbus, Ohio, USA), CH. Mc GUIGAN et al. "Trans-esterification reaction yield novel masked phosphate derivatives of the anti- cancer agent araC", see page 951, ref. No: 129 484d, Bioorg. Med. Chem. Lett. 1991, 1(11), 607-10. | 1-3 |
| A | CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 96, No: 7, 15 February 1982 (Columbus, Ohio, USA), A. ROSOWSKY et al. "Lipophilic | 1-3 |

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

| | |
|---|---|
| Date of the actual completion of the international search 20 May 1992 (20.05.92) | Date of mailing of the international search report 30 June 1992 (30.06.92) |
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office Facsimile No. | Authorized officer Telephone No. |

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)

| Category* | Citation or Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to Claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| | 5'-alkyl phosphate esters of 1-Beta-D-ara-binofuranosylcytosine and its N4-acyl and 2,2'-anhydro-3'- -0-acyl derivatives as potential prodrugs", see page 19, ref. No: 45 867m, J.Med. Chem. 1982, 25(2), 171-8. | |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 92/00712

| I. KLASSEKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶ Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC | | | | | | | | | | |
|--|--|----------------------------------|--|---|----------------|---|----------------------------------|--|--|---|
| Int.Cl. ⁵ C 07 H 19/207, C 07 H 19/19, A 61 K 31/70 | | | | | | | | | | |
| II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">Klassifikationssystem</th> <th style="width: 85%;">Rechercherter Mindestprüfstoff⁷</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Int.Cl.</td> <td>C 07 H, A 61 K</td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="text-align: center;">Klassifikationssymbole</td> </tr> </tbody> </table> | | Klassifikationssystem | Rechercherter Mindestprüfstoff ⁷ | Int.Cl. | C 07 H, A 61 K | Klassifikationssymbole | | | | |
| Klassifikationssystem | Rechercherter Mindestprüfstoff ⁷ | | | | | | | | | |
| Int.Cl. | C 07 H, A 61 K | | | | | | | | | |
| Klassifikationssymbole | | | | | | | | | | |
| Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese ⁸ unter die recherchierten Sachgebiete fallen | | | | | | | | | | |
| III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN⁹ <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Art*</th> <th style="width: 80%;">Kennzeichnung der Veröffentlichung¹¹, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile¹²</th> <th style="width: 10%;">Betr. Anspruch Nr.¹³</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>DE, A1, 3 543 346 (BORYUNG PHARMACEUTICAL CO LTD.) 12 Juni 1986 (12.06.86), siehe Zusammenfassung; Ansprüche. --</td> <td>1-3</td> </tr> <tr> <td>P, A</td> <td>CHEMICAL ABSTRACTS, Band 116, Nr. 9, erschienen 02. März 1992 (02.03.92) (Columbus, Ohio, USA), CH. LE BEC et al. "Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine and arabinocytidine as anticancer prodrugs", siehe Seite 866, Referat Nr. 84 088j, Tetrahedron Lett.</td> <td>1-3</td> </tr> </tbody> </table> | | Art* | Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹² | Betr. Anspruch Nr. ¹³ | X | DE, A1, 3 543 346 (BORYUNG PHARMACEUTICAL CO LTD.) 12 Juni 1986 (12.06.86), siehe Zusammenfassung; Ansprüche. -- | 1-3 | P, A | CHEMICAL ABSTRACTS, Band 116, Nr. 9, erschienen 02. März 1992 (02.03.92) (Columbus, Ohio, USA), CH. LE BEC et al. "Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine and arabinocytidine as anticancer prodrugs", siehe Seite 866, Referat Nr. 84 088j, Tetrahedron Lett. | 1-3 |
| Art* | Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹² | Betr. Anspruch Nr. ¹³ | | | | | | | | |
| X | DE, A1, 3 543 346 (BORYUNG PHARMACEUTICAL CO LTD.) 12 Juni 1986 (12.06.86), siehe Zusammenfassung; Ansprüche. -- | 1-3 | | | | | | | | |
| P, A | CHEMICAL ABSTRACTS, Band 116, Nr. 9, erschienen 02. März 1992 (02.03.92) (Columbus, Ohio, USA), CH. LE BEC et al. "Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine and arabinocytidine as anticancer prodrugs", siehe Seite 866, Referat Nr. 84 088j, Tetrahedron Lett. | 1-3 | | | | | | | | |
| * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen ¹⁰ : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist | | | | | | | | | | |
| "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "g" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist | | | | | | | | | | |
| IV. BESCHEINIGUNG <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%;">Datum des Abschlusses der internationalen Recherche</td> <td style="width: 50%;">Absendedatum des internationalen Recherchenberichts</td> </tr> <tr> <td>20 Mai 1992</td> <td>30. 06. 92</td> </tr> <tr> <td>Internationale Recherchenbehörde</td> <td>Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten</td> </tr> <tr> <td>Europäisches Patentamt</td> <td>Danielle van der Haas </td> </tr> </table> | | | Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts | 20 Mai 1992 | 30. 06. 92 | Internationale Recherchenbehörde | Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten | Europäisches Patentamt | Danielle van der Haas  |
| Datum des Abschlusses der internationalen Recherche | Absendedatum des internationalen Recherchenberichts | | | | | | | | | |
| 20 Mai 1992 | 30. 06. 92 | | | | | | | | | |
| Internationale Recherchenbehörde | Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten | | | | | | | | | |
| Europäisches Patentamt | Danielle van der Haas  | | | | | | | | | |

| III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsatzung von Blatt 2) | | Betr. Anspruch Nr. |
|--|--|--------------------|
| Art | Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile | |
| P, A | <p>1991, 32(45), 6553-6.</p> <p>—</p> <p>CHEMICAL ABSTRACTS, Band 116, Nr. 13, erschienen 30. März 1992 (30.03.92) (Columbus, Ohio, USA), CH. Mc GUIGAN et al. "Trans- -esterification reaction yield novel masked phosphate derivatives of the anticancer agent arac" siehe Seite 951, Referat-Nr. 129 484d, Bioorg. Med. Chem. Lett. 1991, 1(11), 607-10.</p> <p>—</p> | 1-3 |
| A | <p>CHEMICAL ABSTRACTS, Band 96, Nr. 7, 15 Februar 1982 (15.02.82) (Columbus, Ohio, USA), A. ROSOWSKY et al. "Lipophilic 5'-alkyl phos- phate esters of 1-Beta-D-ara- binofuranosylcytosine and its N4-acyl and 2,2'-anhydro-3'- -0-acyl derivatives as potential prodrugs", siehe Seite 19, Referat-Nr. 45 867m, J. Med. Chem. 1982, 25(2), 171-8.</p> <p>—</p> | 1-3 |

ANHANG

zum internationalen Recherchenbericht über die internationale Patentanmeldung Nr.

ANNEX

to the International Search Report to the International Patent Application No.

ANNEXE

au rapport de recherche international relatif à la demande de brevet international n°

PCT/EP 92/00712 SAE 57890

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben. Diese Angaben dienen nur zur Unter-richtung und erfolgen ohne Gewähr.

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Office is in no way liable for these particulars which are given merely for the purpose of information.

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents de brevets cités dans le rapport de recherche international visée ci-dessus. Les renseigne-ments fournis sont donnés à titre indica-tif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office.

| Ia Recherchenbericht angeführtes Patentdokument Patent document cited in search report Document de brevet cité dans le rapport de recherche | Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication | Mitglied(er) der Patentfamilie Patent family member(s) Membre(s) de la famille de brevets | Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication |
|---|---|--|--|
| DE A1 3543346 | 12-06-86 | KR B1 8800093 ES A1 549587 ES A5 549587 ES A1 8706163 ES A1 557428 ES A5 557428 ES A1 8802363 FR A1 2574411 FR B1 2574411 GB A1 2168350 GB B2 2168350 JP A2 61263996 JP B4 63038360 DE A1 3543347 DE C2 3543347 ES A1 549558 ES A5 549558 ES A1 8701192 FR A1 2574412 FR B1 2574412 GB A0 8530114 GB A0 8530115 GB A1 2168353 GB B2 2168353 JP A2 61197591 JP B4 1029800 KR B1 8800094 | 23-02-88 01-06-87 30-06-87 16-08-87 01-06-88 14-06-88 01-08-88 13-06-86 07-10-88 18-06-86 02-03-88 21-11-86 29-07-88 12-06-86 09-11-89 01-12-86 15-12-86 16-02-87 13-06-86 09-06-89 15-01-86 15-01-86 18-06-86 22-06-88 01-09-86 14-06-89 23-02-88 |

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.